甜菜夜蛾不同世代对氯氟氰菊酯抗性减退及多功能氧化酶系活性变化

刘永杰[1]，沈晋良[2]，贾变桃[2]，伦才智[1]

（1. 山东农业大学植物保护学院，山东泰安 271018；2. 南京农业大学，农业部病虫监测与治理重点开放实验室，南京 210095）

摘要：在室内用人工饲料连续饲养和未用药剂筛选条件下，测定了采自田间对氯氟氰菊酯产生高水平抗性甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*（Hübner）种群的抗药性及其多功能氧化酶系活性的变化情况。用点滴法测定不同世代 3 龄幼虫抗性结果为：室内 F_1 代 LD_{50} 值为 0.9672 μg/头，抗性倍数为 4 836.0 倍，以后各世代逐渐降低，至 F_{43} 代 LD_{50} 值为 0.0325μg/头，抗性倍数为 162.5 倍，抗性水平下降了 29.8 倍。用浸叶法测定不同世代 3 龄幼虫抗性结果为：室内 F_1 代 LC_{50} 值为 185.6 mg/L，抗性倍数为 964.7 倍，以后各世代也逐渐降低，至 F_{43} 代 LC_{50} 值为 9.2 mg/L，抗性倍数为 47.8 倍，抗性水平下降了 20.2 倍。与敏感品系相比，该田间种群室内饲养至 F_{43} 代仍处于较高的抗性水平，抗性减退缓慢，很难恢复到敏感水平。测定甜菜夜蛾田间种群室内 F_2、F_{20} 和 F_{41} 代及敏感品系 5 龄幼虫中肠微粒体甲氧试卤灵-O-脱甲基酶、乙氧试卤灵-O-脱乙基酶、芳香基羟基化酶及艾氏剂环氧化酶活性，结果表明：与敏感品系相比，田间种群甲氧试卤灵-O-脱甲基酶和艾氏剂环氧化酶的活性仅 F_2 代显著较高，F_{20} 和 F_{41} 代差异不显著，乙氧试卤灵-O-脱乙基酶和芳香基羟基化酶的活性 F_2、F_{20} 和 F_{41} 代均显著较高。结果提示甜菜夜蛾抗性水平可能与其体内微粒体多功能氧化酶系活性有密切关系。

关键词：甜菜夜蛾；氯氟氰菊酯；抗性减退；多功能氧化酶系；抗性机理

中图分类号：Q965.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2007)04-0349-06

Resistance reduction to *lambda*-cyhalothrin and activity change of multi-function oxidases in the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, under non-selection pressure in the laboratory

LIU Yong-Jie[1], SHEN Jin-Liang[2], JIA Bian-Tao[2], LUN Cai-Zhi[1] (1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tan 'an, Shandong 271018, China; 2. Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Insects, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Larvae of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), originally collected from the field of sugar beet, were reared on artificial diet and evaluated for resistance to *lambda*-cyhalothrin for 43 generations under laboratory condition without exposure to any insecticide (under non-selection). *Lambda*-cyhalothrin showed LD_{50} value of 0.9672 μg/larva at F_1 generation and decreased gradually in onward generations, resulting in LD_{50} value of 0.0325 μg/larva at F_{43} generation by using topical application, and the resistance level of the non-selected strain decreased from 4 836.0-fold to 162.5-fold compared with the susceptible strain. In leaf dipping bioassay, *lambda*-cyhalothrin exhibited LC_{50} value of 185.6 mg/L at F_1 generation and decreased gradually to onward generations with LC_{50} value of 9.2 mg/L at F_{43} generation. Correspondingly, the resistance level of the non-selected strain decreased from 964.7-fold to 47.8-fold compared with the susceptible strain. Though decreased 29.8-fold (topical application) or 20.2-fold (leaf dipping bioassay) from F_1 to F_{43} generation, the resistance levels of F_{43} generation was still quite high, and this indicated that it was very

基金项目：国家“十五”科技攻关项目(2001BA509B08)

作者简介：刘永杰，男，1963 年 6 月生，教授，博士，主要从事害虫抗药性及杀虫剂毒理研究，E-mail：lyj@sdau.edu.cn

收稿日期 Received：2006-11-06；接受日期 Accepted：2007-03-26

difficult for the beet armyworm to recover the sensitivity to *lambda*-cyhalothrin. Activities of four monoxygenases, *i.e.*, methoxyresorufin O-demethylase (MROD), ethoxyresorufin O-deethylase (EROD), arylhydrocarbon hydroxylase (AHH) and aldrin epoxidase (AE), of F_2, F_{20} and F_{41} generation were compared with that of the susceptible strain, respectively. Compared with the susceptible strain, the activities of MROD and AE in midguts in the 5th instar larvae of F_2 generation was significantly higher, but those of F_{20} and F_{41} generations showed no significant difference. Similarly, the activities of EROD and AHH of F_2, F_{20} and F_{41} generation were also significantly higher compared with the susceptible strain. The results suggested that the resistance of *S. exigua* to *lambda*-cyhalothrin was closely correlated with multi-function oxidase which may play different roles at different resistant levels.

Key words: *Spodoptera exigua*; *lambda*-cyhalothrin; resistance reduction; multi-function oxidases; resistance mechanism

昆虫的抗药性是昆虫种群内部遗传结构在杀虫剂选择作用下持续变化的外在表现。昆虫种群抗性遗传结构一般由纯合子敏感个体、纯合子抗性个体和二者交配形成的杂合子个体组成。在未受到杀虫剂选择时纯合子敏感个体占种群的绝大多数,随着杀虫剂的持续使用,昆虫种群中抗性个体的等位基因频率不断提高,种群的抗性水平不断发展。当停止使用杀虫剂,消除药剂选择压力后种群的抗性水平会表现出下降趋势,但抗性下降的程度与抗性水平、抗性等位基因频率的高低及抗性遗传方式等有密切关系(Abdullah *et al*., 2000;唐振华和吴士雄, 2000)。

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner)是一种世界性分布的多食性重要农业害虫,长期大量使用化学药剂导致该虫对多类杀虫剂产生了不同程度的抗药性(Moulton *et al*., 2000)。多年来甜菜夜蛾在我国东部广大地区发生危害严重,多数地区的甜菜夜蛾对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性达到了中到高水平阶段,拟除虫菊酯类杀虫剂基本上不能有效控治其危害(刘永杰和沈晋良,2002)。如果停止使用拟除虫菊酯类杀虫剂一段时间,甜菜夜蛾对该类药剂的抗性是否会明显降低,能否恢复到敏感性水平,这对探索合理的抗性治理措施,包括恢复使用拟除虫菊酯类杀虫剂,控制其危害具有重要意义。我们在前期研究甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯抗性机理和遗传方式的基础上,进一步探讨了停用药剂后,在室内人工饲养条件下,甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯的抗性减退规律及其与抗性相关的多功能氧化酶系活性的变化情况,为生产上合理地利用此类药剂,科学防治抗性甜菜夜蛾提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试甜菜夜蛾

敏感品系(S):由武汉科诺生物技术有限公司提供,在室内未接触任何药剂的情况下用人工饲料连续饲养十多年。在本实验室用人工饲料继续饲养供实验用。

抗性品系(R):2001 年 9 月采自南京市江浦大禹生物技术有限公司园艺场甜菜田,对氯氟氰菊酯达到高水平抗性。该品系与敏感品系在 27℃ ± 1℃,光周期 14L∶10D 的光照培养箱内用人工饲料继代饲养供实验用。

1.2 供试药剂和试剂

97.0%氯氟氰菊酯原药和 2.5%氯氟氰菊酯乳油(南京红太阳集团公司第一农药厂);试卤灵(resorufin),甲氧试卤灵(methoxyresorufin),乙氧试卤灵(ethoxyresorufin),苯并芘[benzo (a) pyrene],牛血清白蛋白(BAS)及还原型辅酶Ⅱ(NADPH)(Sigma 公司产品);艾氏剂(aldrin)和狄氏剂(dieldrin)均 > 99%(购自中国标准物质中心,美国产)。二硫苏糖醇(DTT)(Serva 产品);苯甲基硫酰氟(PMSF)和考马斯亮蓝 G-250(Fluka 产品);乙二胺四乙酸(EDTA)和连二亚硫酸钠及苯基硫脲(PTU)(上海试剂一厂);石油醚等其他试剂均为国产分析纯试剂。

1.3 抗药性测定方法

1.3.1 点滴法:原药用丙酮稀释成 6 ~ 8 个系列浓度,用毛细管微量点滴器(容积为 0.048 μL)分别将药液点滴于 3 龄幼虫(体重为 5 ~ 7 mg/头)胸部背面。每处理 30 头,重复 3 次,每浓度共处理 90 头,以丙酮作对照。每塑料培养皿放处理幼虫 5 头,喂以人工饲料,放入 27℃ ± 1℃,光周期 14L∶10D 的光

照培养箱内，48 h 检查结果。用南京农业大学农业部病虫监测与治理重点开放实验室建立的生物测计数据处理与管理系统（BA）计算毒力回归式、LD_{50}值及 95%置信限。

1.3.2　浸叶法：将 2.5%氯氟氰菊酯乳油用自来水稀释成 6～8 个系列浓度，把盆栽夏光甘蓝叶片放入药液中浸渍 10 s，晾干后叶柄用脱脂棉浸水包扎保湿，以自来水浸渍叶片为对照。每个塑料杯内放入 1 张上述叶片，接入 1 头 3 龄幼虫（体重同上），用保鲜膜封口。每处理 30 头，重复 3 次，每浓度共处理 90 头。48 h 检查结果。饲养条件和数据统计方法同上。

1.4　微粒体酶液制备

参照 Lee 和 Scott（1989a）方法。在冰盘上盛有 1.15% KCl 溶液的培养皿中解剖甜菜夜蛾 5 龄幼虫（体重为 160～200 mg），取出中肠清洗干净后放入玻璃匀浆器中，加 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液[pH 7.5，含 0.1 mmol/L DTT、1 mmol/L EDTA、1 mmol/L PTU、1 mmol/L PMSF（先溶于少量乙醇中）、1.2 mmol/L 甘油]，在冰浴内匀浆。匀浆液于 10 000 × g、4℃离心 15 min（Heraeus D-37520 高速离心机），取上清酶液用 4 层细纱布过滤后再于 100 000 × g 离心 60 min（Hitachi CP-70 超速离心机），将微粒体沉淀用 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液（pH 7.5，含 0.1 mmol/L DTT、1 mmol/L EDTA、1 mmol/L PTU、1 mmol/L PMSF、2.7 mmol/L 甘油）悬浮备用。用考马斯亮蓝法（Bradford，1976）测定微粒体悬浮液蛋白质含量。

1.5　单加氧酶活性测定

1.5.1　甲氧试卤灵-O-脱甲基酶（methoxyresorufin O-demethylase，MROD）活性测定：参照 Lee 和 Scott（1989a）方法。2 mL 反应混合液中含有 0.1 mmol/L EDTA、5 mmol/L $MgCl_2$、0.1 mg 微粒体蛋白、5μL 1 mmol/L 甲氧试卤灵（溶于二甲亚砜）及 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液（pH 7.8）。加入 10 μL 0.01 mol/L NADPH 开始反应（34℃），在荧光分光光度计（岛津 RF-5000 型）中测定最初 2～3 min 的荧光变化，以起始反应速率确定酶的活性（测定条件：激发波长 550 nm，光栅狭缝 5 nm；发射波长 580 nm，光栅狭缝 5 nm）。

1.5.2　乙氧试卤灵-O-脱乙基酶（ethoxyresorufin O-deethylase，EROD）活性测定：测定方法同 1.5.1 节。

1.5.3　芳香基羟基化酶（arylhydrocarbon hydroxylase，AHH）活性测定：参照 Lee 和 Scott（1989a）及邱立红和张文吉（2001）方法。2 mL 反应体系中含有 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液（pH 7.8）、0.1 mmol/L EDTA、5 mmol/L $MgCl_2$、0.1 mg 微粒体蛋白。在 34℃平衡 3 min，记录荧光基线后加入 3 μL 苯并芘丙酮液（共 6 nmol），记录升高的荧光值，最后加入 20 μL 0.01 mol/L NADPH 开始反应。记录降低的荧光值，通过降低的荧光值计算酶的活性（测定条件：激发波长 387 nm，光栅狭缝 5 nm；发射波长 406 nm，光栅狭缝 5 nm）。

1.5.4　艾氏剂环氧化酶（aldrin epoxidase，AE）活性测定：参照 Lee 和 Scott（1989b）及邱立红和张文吉（2001）方法。1 mL 反应体系中含有 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液（pH 7.8）、0.1 mg 微粒体蛋白、5 μL 艾氏剂（4 mg/ mL，溶于乙醇）、150 mmol/L KCl。在 30℃水浴条件下振荡 5 min 后，加入 0.1 mL 0.02 mol/L NADPH 开始反应。10 min 后加入 0.8 mL 丙酮终止反应。分别用 2 mL 石油醚萃取 2 次，取上层液相合并，经无水硫酸钠干燥后用岛津 GC-2010 气相色谱仪分析。

气谱条件：ECD 检测器，毛细管柱 BpX-50，30 m × 0.35 mm，膜厚 0.5 μm，固定液为 50% Phenyl（equiv.）Polysiphenylene。进样口温度 240℃，柱温 210℃，检测室温度 300℃，柱流量 3.25 mL/min，样品保留时间 8.2 min，最小检出量 1.0 ng/mL。

2　结果与分析

2.1　甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯抗性变化结果

在室内相同条件下用人工饲料饲养甜菜夜蛾抗氯氟氰菊酯种群和敏感品系，整个连续饲养过程中未接触任何药剂。分别用点滴法和浸叶法测定抗性种群不同世代 3 龄幼虫 LD_{50}值（μg/头）和 LC_{50}值（mg/L），并与敏感品系相比较，计算其抗性倍数。通过连续饲养 43 代，用点滴法测定了 19 代 3 龄幼虫的 LD_{50}值和抗性倍数：室内 F_1 代 LD_{50}值为 0.9672 μg/头，抗性倍数为 4 836.0 倍，以后各世代 LD_{50}值和抗性倍数逐渐降低，至 F_{43}代 LD_{50}值为 0.0325μg/头，抗性倍数为 162.5 倍，抗性水平下降了 29.8 倍。用浸叶法分别测定 18 代 3 龄幼虫的 LC_{50}值和抗性倍数：室内 F_1 代 LC_{50}值为 185.6 mg/L，抗性倍数为 964.7 倍，以后各世代 LC_{50}值和抗性倍数也逐渐降低，至 F_{43}代 LC_{50}值为 9.2 mg/L，抗性倍数为 47.8 倍，抗性水平下降了 20.2 倍。从点滴和浸叶 2 种方法测定结果可以看出，随着饲养世代数的增加，其抗性倍数

呈逐渐下降趋势，前 20 代抗性分别下降 19.9 倍和 11.5 倍，第 20 ~ 43 代又分别下降 1.5 倍和 1.8 倍，说明前 20 代是抗性下降的主要阶段，20 代以后抗性下降速度明显减缓，抗性趋于稳定。至 43 代 2 种方法测定的抗性倍数还分别为 162.5 倍和 47.8 倍，仍处于较高的抗性水平，说明田间形成的该抗性种群在停止使用药剂一定时间内还很难恢复对氯氟氰菊酯的敏感性。此外，用点滴法测定的抗性倍数明显高于用浸叶法测定的结果，反映出药剂进入虫体内的途径不同可能导致不尽相同的抗性机理(表 1)。

表 1　室内未接触药剂、连续饲养条件下甜菜夜蛾田间种群对氯氟氰菊酯抗性变化结果

Table 1　Progression of resistance to *lambda*-cyhalothrin in the 3rd instar larvae of *Spodoptera exigua* under laboratory condition for 43 generations without exposure to any insecticides

世代 Generations	点滴法 Topical application			浸叶法 Leaf dipping bioassay		
	斜率 *b* Slope	LD_{50} (μg/头, μg/larva) (95% FL)	抗性倍数 RR	斜率 *b* Slope	LC_{50} (mg/L) (95% FL)	抗性倍数 RR
R F_1	2.1163	0.9672 (0.7106 – 1.2435)	4 836.0	2.2893	185.6 (154.2 – 218.7)	964.7
F_2	2.2071	0.9054 (0.6738 – 1.1563)	4 527.0	2.0840	170.4 (139.3 – 183.6)	885.7
F_3	1.9755	0.8298 (0.5697 – 1.1240)	4 149.0	1.7383	156.3 (125.4 – 187.3)	812.2
F_4	2.0569	0.6171 (0.4325 – 0.8037)	3 085.5			
F_5	1.8284	0.5438 (0.3271 – 0.7835)	2 719.0	1.7048	126.5 (103.6 – 157.7)	657.5
F_6	2.1142	0.3517 (0.2143 – 0.4974)	1 758.5	2.0339	83.5 (72.1 – 97.3)	434.0
F_7				1.6671	74.2 (63.7 – 87.4)	385.6
F_8	1.8387	0.1831 (0.1134 – 0.2605)	915.5	1.8063	50.1 (43.6 – 58.2)	260.3
F_9	1.7964	0.1328 (0.0972 – 0.1690)	664.0			
F_{10}	2.1059	0.0862 (0.0654 – 0.1093)	431.0	1.9092	30.6 (25.8 – 36.5)	159.0
F_{12}	1.7530	0.1032 (0.0763 – 0.1287)	516.0	1.7645	23.4 (19.7 – 27.8)	121.6
F_{15}	1.9076	0.0784 (0.0639 – 0.0953)	391.0	1.7077	18.2 (15.6 – 22.3)	94.6
F_{18}	1.7436	0.0623 (0.0408 – 0.0838)	311.5	1.9114	21.7 (18.3 – 25.0)	112.7
F_{20}	1.8639	0.0487 (0.0372 – 0.0590)	243.5	1.6622	16.2 (13.5 – 18.9)	84.2
F_{23}	1.6798	0.0379 (0.0187 – 0.0576)	189.5	1.8370	15.0 (13.3 – 17.2)	78.0
F_{26}	2.0651	0.0406 (0.0267 – 0.0549)	203.0	1.6004	12.0 (9.4 – 14.8)	62.6
F_{30}	1.8480	0.0356 (0.0243 – 0.0470)	178.0	1.7652	8.4 (6.9 – 10.2)	43.6
F_{33}	2.0061	0.0418 (0.0347 – 0.0476)	209.0	1.8803	11.5 (9.6 – 13.7)	59.6
F_{36}	1.7047	0.0333 (0.0215 – 0.0463)	166.5	1.7935	10.5 (8.7 – 12.4)	54.3
F_{41}	1.8660	0.0349 (0.0238 – 0.0467)	174.5	1.6864	8.8 (6.3 – 10.6)	45.6
F_{43}	1.8985	0.0325 (0.0246 – 0.0423)	162.5	1.7603	9.2 (7.2 – 11.3)	47.8
S	2.1864	0.0002 (0.0001 – 0.0003)	1	2.6130	0.1924 (0.1508 – 0.2376)	1

S：敏感品系 Susceptible strain；R：抗性品系 Resistant strain；RR：抗性倍数 Resistance ratio.

2.2　微粒体多功能氧化酶活性变化结果

分别测定甜菜夜蛾田间种群室内饲养的 F_2、F_{20}、F_{41} 代及敏感品系 5 龄幼虫中肠微粒体甲氧试卤灵-O-脱甲基酶、乙氧试卤灵-O-脱乙基酶、芳香基羟基化酶及艾氏剂环氧化酶的活性，结果表明：田间种群室内饲养 F_2 代 5 龄幼虫中肠微粒体甲氧试卤灵-O-脱甲基酶和艾氏剂环氧化酶的活性与敏感品系相比差异显著，F_{20}、F_{41} 代与敏感品系相比差异不显著；F_2、F_{20}、F_{41} 代 5 龄幼虫中肠微粒体乙氧试卤灵-O-脱乙基酶和芳香基羟基化酶的活性与敏感品系相比均差异显著，但随着饲养代数的增加其活性呈现下降趋势（表 2）。

表 2　甜菜夜蛾田间种群室内不同世代及敏感品系中肠微粒体多功能氧化酶活性测定结果

Table 2　Comparison of monooxygenase activities of a *lambda*-cyhalothrin resistant strain in different generations with a susceptible strain of *Spodoptera exigua*

世代 Generations	P450 酶系活性 Monooxygenase activity			
	甲氧试卤灵-O-脱甲基酶 Methoxyresorufin O-demethylase ($pmol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$)	乙氧试卤灵-O-脱乙基酶 Ethoxyresorufin O-deethylase ($pmol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$)	芳香基羟基化酶 Arylhydrocarbon hydroxylase ($nmol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$)	艾氏剂环氧化酶 Aldrin epoxidase ($nmol \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$)
R F_2	12.09 ± 1.87 b	10.33 ± 2.03 b	4.65 ± 1.46 b	1.13 ± 0.38 b
F_{20}	9.53 ± 1.07 a	7.61 ± 1.36 b	3.80 ± 0.46 b	1.03 ± 0.08 a
F_{41}	9.60 ± 1.24 a	6.98 ± 1.54 b	4.09 ± 1.13 b	1.01 ± 0.05 a
S	9.43 ± 1.06 a	5.93 ± 0.85 a	3.05 ± 0.46 a	0.98 ± 0.07 a

注 Note：数据后不同字母表示同一栏间差异显著（$P \leq 0.05$）Means in the same column followed by different letters are significantly different ($P \leq 0.05$) by DMRT. R：抗性品系 Resistant strain；S：敏感品系 Susceptible strain.

3　讨论

昆虫的抗药性是长期大量使用化学药剂选择的结果，是昆虫对药剂压力的一种生存适应能力。当害虫对某种杀虫剂产生抗药性后，通常会停用该药剂。停用后害虫抗性减退的速度和程度直接决定该药剂能否被重新使用以及需要停用多长时间才能重新使用。已有室内研究表明，停用药剂后害虫的抗性水平大多会下降，表现出抗性不稳定性，但不同害虫对不同药剂抗性的下降程度和速度不同，多数情况下很难再恢复到原来的敏感性（吴孔明和刘芹轩，1995；吴益东等，1996；Abdullah *et al*.，2000；兰亦全和赵士熙，2004）。去除药剂选择压力后，室内害虫种群抗性减退的速度快慢主要决定于种群抗性基因的纯合程度、显隐性和抗性基因型的相对适合度。甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯的抗性是多基因控制，不完全显性，抗性种群存在适合度上的劣势（刘永杰和沈晋良，2003b）。

本实验在室内未接触任何药剂的情况下分别用点滴法和浸叶法测定连续饲养的甜菜夜蛾种群，从对饲养 43 代不连续测定结果可以看出，虽然抗性水平下降明显，但到 F_{43} 代时 2 种方法测定的抗性倍数还分别为 162.5 倍和 47.8 倍，抗性水平仍然比较高，具有一定的抗性稳定性。室内连续饲养 43 代需要将近 4 年时间，说明其抗性减退速度比较缓慢，在较短时间内很难再恢复到敏感性水平。因此，生产上要尽可能采用多种有效措施避免使害虫对拟除虫菊酯类杀虫剂产生高水平抗性，对已经产生高水平抗性的害虫要暂停使用此类药剂，采用包括选用不同作用机理药剂在内的综合防治方法。

b 值是反映昆虫种群同质性的一个重要指标，当 *b* 值较高时说明该种群的同质性相对较高，即种群抗性个体等位基因频率相对较高（沈晋良和吴益东，1995；唐振华和吴士雄，2002）。从 2 种方法测定的不同世代斜率 *b* 值看出，尽管用浸叶法测定的 *b* 值略低于用点滴法测定的结果，但 2 种方法测定的 *b* 值基本都在 1.6 ~ 2.3 之间，说明该抗性种群的同质性还不是很高。因此，去除选择压后，随着饲养世代数的增加，*b* 值呈下降趋势，反映出抗性种群的同质性在逐渐下降，也就是说抗性种群的抗性等位基因频率逐渐下降，种群中敏感性个体数量在逐渐增加，因此，抗性水平出现逐渐下降的趋势。

对害虫抗性机理方面的研究比较广泛和深入，害虫对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性机理涉及到表皮穿透性降低、解毒代谢酶活性提高和靶标部位敏感性降低。甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯的抗性与其表皮穿透性降低和多功能氧化酶系活性提高有关（刘永杰和沈晋良，2003a；刘永杰等，2005）。多功能氧化酶是一类诱导酶系，在解毒代谢中起重要作用，当有药剂压力下，多功能氧化酶活性提高，解毒代谢作用增强。但当药剂压力消除，连续饲养多代后多功能氧

化酶系活性会如何变化？本实验测定连续饲养的 F_2、F_{20}和 F_{41}代 5 龄幼虫中肠多功能氧化酶系活性结果表明,在相同饲养条件下,随着连续饲养时间的增长,多功能氧化酶各功能基团酶的活性呈下降趋势,而敏感品系饲养多代后活性变化不显著。田间种群甲氧试卤灵-O-脱甲基酶和艾氏剂环氧化酶的活性仅 F_2 代差异显著,乙氧试卤灵-O-脱乙基酶和芳香基羟基化酶的活性 F_2、F_{20}和 F_{41}代均差异显著,反映出多功能氧化酶系在不同抗性水平阶段的活性存在一定的变化。

昆虫神经钠离子通道是拟除虫菊酯类杀虫剂的主要作用靶标。家蝇 *Musca domestica*、小菜蛾 *Plutella xylostella*、烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 等 10 多种害虫对拟除虫菊酯类杀虫剂产生的高水平抗性都与钠离子通道 α 功能亚基点突变有关(唐振华等, 2004)。虽然尚未证实甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯的抗性与靶标部位钠离子通道的敏感性下降有关,对氯氟氰菊酯产生高水平抗性(4 836.0 倍)甜菜夜蛾的抗性机理很可能也涉及到神经钠离子通道敏感性下降,这需在以后的研究中进一步证实。

参 考 文 献 (References)

Abdullah M, Sarnthoy O, Tantakom S, Isichaikul S, Chaeychomsri S, 2000. Monitoring insecticide resistance development in beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 34: 450 – 457.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248 – 254.

Lan YQ, Zhao SX, 2004. The stability of resistance to three pyrethroids in *Spodoptera exigua* (Hübner). *Chin. J. Pestic. Sci.*, 6(1): 77 – 80. [兰亦全, 赵士熙, 2004. 甜菜夜蛾对三种拟除虫菊酯杀虫剂的抗性稳定性研究. 农药学学报, 6 (1): 77 – 80]

Lee SST, Scott JG, 1989a. An improved method for preparation, stabilization and storage of housefly (Diptera: Muscidae) microsome. *J. Econ. Entomol.*, 82(6): 1 549 – 1 563.

Lee SST, Scott JG, 1989b. Microsomal cytochrome P450 monooxygenases in the house fly (*Musca domestica* L.): Biochemical changes associated with pyrethroid resistance and phenobarbital induction. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 35: 1 – 10.

Liu YJ, Shen JL, 2002. Monitoring for four group of insecticides resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Cotton Sci.*, 14 (6): 356 – 360. [刘永杰, 沈晋良, 2002. 甜菜夜蛾对四类杀虫剂的抗药性监测. 棉花学报, 14 (6): 356 – 360]

Liu YJ, Shen JL, 2003a. Cuticular penetration mechanism of resistance to *lambda*-cyhalothrin in *Spodoptera exigua*. *Acta Entomol. Sin.*, 46 (3): 288 – 291. [刘永杰, 沈晋良, 2003a. 甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯抗性的表皮穿透机理. 昆虫学报, 46(3): 288 – 291]

Liu YJ, Shen JL, 2003b. Biochemical mechanism and genetics of resistance to *lambda*-cyhalothrin in the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, and the relative fitness of the resistant strain. *Acta Entomol. Sin.*, 46(5): 567 – 572. [刘永杰, 沈晋良, 2003b. 甜菜夜蛾抗氯氟氰菊酯品系相对适合度、抗性生化机理及抗性遗传方式. 昆虫学报, 46 (5): 567 – 572]

Liu YJ, Shen JL, Zhao XD, Xu PJ, Shu HR, 2005. Relationship between multi-function oxidases and the resistance to *lambda*-cyhalothrin in beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Chin. J. Pestic. Sci.*, 7(1): 19 – 23. [刘永杰, 沈晋良, 赵旭东, 徐蓬军, 束怀瑞, 2005. 多功能氧化酶系与甜菜夜蛾对氯氟氰菊酯抗药性的关系. 农药学学报, 7(1): 19 – 23]

Moulton JK, Pepper DA, Dennehy TJ, 2000. Beet armyworm (*Spodoptera exigua*) resistance to spinosad. *Pest Manag. Sci.*, 56: 842 – 848.

Qiu LH, Zhang WJ, 2001. Relationship between mixed-function oxidases and the resistance to fenvalerate in *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomol. Sin.*, 44(4): 447 – 453. [邱立红, 张文吉, 2001. 微粒体多功能氧化酶系与棉铃虫对氰戊菊酯抗药性的关系. 昆虫学报, 44 (4): 447 – 453]

Shen JL, Wu YD, 1995. Resistance of *Helicoverpa armigera* to Insecticides and Its Resistance Management. Beijing: China Agriculture Press. 132 – 135. [沈晋良, 吴益东, 1995. 棉铃虫抗药性及其治理. 北京: 中国农业出版社. 132 – 135]

Tang ZH, Wu SX, 2002. Heredity and Evolution of Insect Resistance to Pesticides. Shanghai: Shanghai Sci-Tech Literature Press. 284 – 288. [唐振华, 吴士雄, 2002. 昆虫抗药性的遗传与进化. 上海: 上海科学技术文献出版社. 284 – 288]

Tang ZH, Yuan JZ, Zhuang PJ, Tao LM, 2004. The structure of sodium channels and gene mutations associated with knockdown resistance in insects. *Acta Entomol. Sin.*, 47(6): 830 – 836. [唐振华, 袁建中, 庄佩君, 陶黎明, 2004. 昆虫钠通道的结构和与击倒抗性有关的基因突变. 昆虫学报, 47(6): 830 – 836]

Wu KM, Liu QX, 1995. Stability of resistance to several insecticides in cotton aphid. *Acta Entomol. Sin.*, 38(2): 253 – 255. [吴孔明, 刘芹轩, 1995. 棉蚜对杀虫剂抗性的稳定性. 昆虫学报, 38(2): 253 – 255]

Wu YD, Shen JL, Tan FJ, You ZP, 1996. Stability of pyrethroids resistance in the *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Entomol. Sin.*, 39(4): 342 – 346. [吴益东, 沈晋良, 谭福杰, 尤子平, 1996. 棉铃虫对拟除虫菊酯杀虫剂抗性稳定性研究. 昆虫学报, 39(4): 342 – 346]

(责任编辑: 黄玲巧)